DIE SAUREN PHOSPHATASEN IN DEN V, KUPFERSCHEN STERNZELLEN BEI LEBERKRANKHEITEN DES MENSCHEN

Hans-Elmar Triebig

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546821_0009

DIE SAUREN PHOSPHATASEN IN DEN V, KUPFFERSCHEN STERNZELLEN BEI LEBERKRANKHEITEN DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München

vorgelegt von

Hans-Elmar Triebig
aus München

München - 1981

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.3.82

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

INHALTSVERZEICHNIS Seite

I. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG 1

II. BEMERKUNGEN ZUR PROBLEMATIK DER HISTOCHEMISCHEN DARSTELLUNGEN VON ENZYMEN, ENZYME ALLGEMEIN 3

1) Definition und Pathologie der Phosphatasen 11

2) Methoden zur histochemischen Darstellung der sauren Phosphatasen 16

a) Bleisalzmethode nach GOMORI 16
b) Azo-Farbstoffmethode 17
c) Indoxylester-Methoden 18

III. GESCHICHTE DER STERNZELLEN 19

IV. ÜBERBLICK ÜBER DIE FUNKTION DER KUPFFERZELLEN AUS HEUTIGER SICHT 22

V. ERGEBNISSE ANDERER AUTOREN 25

VI. EIGENE UNTERSUCHUNGEN 30

1. Patientenkreis 30

2. Beschreibung der bei den eigenen Untersuchungen genutzten Methode 31

3. Histochemische Ergebnisse 32

a) Referenzgruppe ohne Lebererkrankung 32
b) Virushepatitits 33
c) Lebercirrhose 33
d) Fettleber 34
e) Chronisch aggressive Hepatitis 35
f) Chronisch persistierende Hepatitis 35

4. Die Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen im Vergleich mit anderen Parametern 37

A) Zusammenhänge mit klinisch-chemischen Parametern 40

a) Transaminasen 40
b) Cholesterin 42
c) Gamma-Globuline 43
d) Bromthaleintest 44
e) Bilirubin 45
f) Eisenspiegel im Serum 46

B) Histochemische Vergleiche 47

a) Siderin 47
b) Nachweis von groben Fettropfen in den Hepatozyten 48

Seite

VII. DISKUSSION 54

VIII. ZUSAMMENFASSUNG 56

IX. LITERATURVERZEICHNIS 59

I. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die Wertigkeit der heute üblichen und routinemäßig durchgeführten enzymatischen Serumuntersuchungen, sei es zu diagnostischen Zwecken oder zur Verlaufsbeurteilung verschiedener Krankheiten, steht außer Zweifel. Demgegenüber sind Untersuchungen von Enzymaktivitäten in Gewebsschnitten allein durch den wesentlich höheren Arbeitsaufwand, als auch durch die Schwierigkeiten, diese Ergebnisse quantitativ auszudrücken, in der täglichen Routine erhebliche Grenzen gesetzt. So beschrieben 1971 KOZIK, WARCHOL und ACRIMOWICZ unter folgenden Bedingungen:

- 45 min. Inkubationszeit
- 30 - 50µ dicke Schnitte

eine brauchbare, aber aufwendige Lasermethode zur quantitativen Darstellung der Aktivität der sauren Phosphatase in histochemischen Schnitten, die zu proportionalen Extinktionsverhältnissen führte. Jedoch ergeben sich auch aus enzymhistotopochemischen Untersuchungen unter Umständen oft wertvolle zusätzliche Informationen, die zu einer wesentlich umfassenderen Beurteilung eines Krankheitsbildes, bei entsprechender Kenntnis des Bereiches normaler Erscheinungsformen, führen.

Der Vorteil einer solchen Untersuchung ist, einen Teil der Zellfunktion in Form eines Farbstoffniederschlages direkt am Ort des Geschehens nachzuweisen und nicht über den Umweg der morphologischen Veränderungen Rückschlüsse auf Funktionsabweichungen zu ziehen.

Ein Hinweis darauf findet sich in den Untersuchungen von GROGG und PEARSE (1952) bei histoenzymatischen Untersuchungen an mit Tuberkulose infizierten Tieren. Die bei der Auseinandersetzung mit den Tb-Bakterien maßgeblich und direkt beteiligten Epitheloidzellen zeigen dabei folgendes enzymatische Verhalten:
Je resistenter eine Tierart gegen Tb ist, umso größer ist die Aktivität der sauren Phosphatasen in diesen Zellen. So fand sich z.B. bei den sehr resistenten Spezies, wie Maus und Ratte eine hohe Aktivität der sauren Phosphatasen in den Epitheloidzellen, wogegen bei den wenig resistenten Meerschweinchen keine Aktivität nachweisbar war.
Daß sich die normalen Erscheinungsbilder in relativ engen Grenzen halten, führte GÖSSNER (1958) auf eine genetisch bedingte Determination von Enzymverteilungsmustern zurück. Er behauptet, es sei sogar möglich, nur anhand dieser Verteilungsmuster Organe zu diagnostizieren.
Allerdings zeigte sich auch, daß es bei dem vom morphologischen Bild her sehr ähnlich aufgebauten Geweben verschiedener Tierarten in den Enzymaktivitäten und deren Verteilung zu beträchtlichen Unterschieden kommen kann.
So berichtet GÖSSNER (1958) über eine deutliche Aktivität der alkalischen Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen bei Rind und Kalb, einer mäßigen bei Schwein und Schaf, wogegen ein Nachweis bei Mensch, Kaninchen, Meerschweinchen, Maus, Ratte, Goldhamster, Hund, Katze und Huhn in keinem Fall gelang.

Bedingt durch diese Konstanz der Enzymverteilungsmuster einer Rasse unter physiologischen Bedingungen soll nun in dieser Arbeit untersucht werden, ob es unter dem Einfluß verschiedener pathogener Noxen und sonstiger pathologischer Veränderungen zu einer charakteristischen Abweichung im Verhalten der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen des Menschen kommt.

II. BEMERKUNGEN ZUR PROBLEMATIK DER HISTOCHEMISCHEN DARSTELLUNGEN VON ENZYMEN, ENZYME ALLGEMEIN

Enzyme sind nicht ubiquitär im Organismus vorhanden, sondern meist an Kompartimente gebunden, wie aus folgender Tabelle nach KAUTZSCH hervorgeht:

Tab. 1: Verteilung der Enzyme in der Leberzelle (nach KAUTZSCH).

Zellkern	Alkalische Phosphatase (in Nukleoli)
Mitochondrien	Pyridinnukleotid-spezifische Dehydrogenasen
	Malat-Dehydrogenase
	Isozitrat-Dehydrogenase
	Glutamat-Dehydrogenase
	Sukzinat-Dehydrogenase
	Zytochromoxydase
	Glyzerin-I-Phosphat-Oxydase
Mikrosomen	Cholinesterase
Endoplasmatisches Retikulum	Glukose-6-Phosphatase
	Glukuronyl-Transferase

Tab. 1 (Fortsetzung):

Lysosomen	Degradierende Enzyme
	Saure Phosphatase
	Beta-Glukuronidase
	Sulfatase
	Desoxyribonuklease
	Ribonuklease
Zytoplasma	Laktatdehydrogenase
	Aldolase
	Glutamat-Oxalat-Transaminase
	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
	Fruktose-I-Phosphat-Aldolase
	Sorbit-Dehydrogenase
	Ornithin-Karbamoyl-Transferase
	Leuzin-Aminopeptidase
Membran	Alkalische Phosphatase

Dabei liegen die Enzyme entweder in löslicher Form vor, wie z.B. die sauren Phosphatasen in den Lysosomen oder sie sind an membranöse Strukturen gebunden, wie z.B. die Succinat-Dehydrogenase in den Mitochondrien.

IDE und FISHMAN zeigten 1969, daß durch Einfrieren und Auftauen die lysosomale saure Phosphatase zur Freisetzung aus dem Kompartiment gelangt, jedoch geschieht dies nicht bei den Mikrosomen.

Im Gegensatz dazu war die Freisetzung von mikrosomalen sauren Phosphatasen und ß-Glucuronidase bei Behandlung mit Hyaluronidase zu beobachten.

Die Enzyme sind in ihrer Wirkungsintensität sehr pH-abhängig (alkalische Phosphatasen und saure Phosphatasen) und, bedingt durch ihre Proteinnatur, äußerst thermolabil, was auch die anfärbbare Darstellung beeinträchtigen kann. Daneben hängt die sogenannte biologische Halbwertszeit noch stark von Strahlung, Druck und mechanischer Zerstörung ab.

Die biochemische Darstellung von Enzymen und besonders ihrer Konzentration erfolgt über den Nachweis ihrer Aktivitäten, d.h., ein Enzym wird in seiner Konzentration anhand der unter standardisierten Bedingungen in einer gewissen Zeit umgesetzten oder gebildeten Substanzmenge gemessen, mit welcher das Substrat in das Reaktionsprodukt übergeführt wird. Dabei ist zu beachten, daß die Geschwindigkeit im Verlauf der Reaktion meist abnimmt, da es, wie bei jeder chemischen Reaktion zur Einstellung des sogenannten chemischen Gleichgewichts kommt. Die Umsetzungsgeschwindigkeit wird umso langsamer, je näher der Gleichgewichtszustand rückt. Fener können bei einer enzymatisch gesteuerten Reaktion H^+- oder OH^--Ionen entstehen, die so über die Veränderung des pH-Wertes die Aktivität des Enzyms ganz entscheidend beeinflussen können. Bei der Wahl der notwendigen Pufferlösung ist aber auch zu berücksichtigen, daß der Puffer selbst nicht als Enzyminhibitor wirkt.

Im Folgenden nun einige allgemeine Bemerkungen zur Problematik der histochemischen Darstellung von Enzymen:

Enzymnachweis in situ:

Im Gewebehomogenat erfolgt die Aktivitätsmessung mit einer biochemisch quantitativen Methode.
Da aber ein Gewebe keine homogene Masse darstellt und auch meistens nicht nur aus einer Art von Zellen besteht, ist natürlich mit der biochemischen Methode keinerlei Aussage über die Verteilung von Enzymaktivitäten in den einzelnen Zellen oder Zellarten zu machen.
Mit der Histochemie ist es nun möglich, den unmittelbaren Sitz der Enzyme in den Zellen nachzuweisen und die Verteilung innerhalb eines Organs sichtbar zu machen.
Aus diesem Grunde müssen einige Kriterien, die im Folgenden umrissen werden, erfüllt sein:

1. Der Histochemiker muß bei der Vorbereitung, also speziell bei der Fixation seines Gewebeschnittes darauf achten, daß neben Erhaltung der morphologischen Struktur die Enzymaktivität nicht verloren geht, um anschließend bei der Auswertung Bereiche der Aktivität morphologischen Strukturen zuordnen zu können.

2. Bei der Schnittdicke ist zu beachten, daß, falls sie zu groß gewählt wird, zu große Diffusionswege entstehen, und daß häufiger Zellkompartimente nicht angeschnitten werden, die sich dann, falls die sie umgebende Membran für die verwendeten Reagentien nicht diffusibel ist, dem histochemischen Nachweis entziehen.

Bei Anwendung der Gefriertechnik führt oft auch die Zeitspanne zwischen Auftauen und vollständigem Durchtränken des Präparats zur Enzymdiffusion, das dann zu falschen Lokalisationen führt. Als ideales, aber praktisch nie erreichbares Ziel wäre zu fordern, daß die Fixation des Schnittes das Enzym in einen unslöslichen Zustand überführt, ohne dabei Aktivitätsverluste zu erleiden.

3. Von Seiten der verwendeten Reagentien bei einem histochemischen Enzymnachweis ergeben sich folgende Forderungen:

   a) Sie müssen extrem rein sein, sowie standardisiert und frei von jeglichen Enzyminhibitoren, also vor allem auch frei von Schwermetallsalzen, eine Forderung, die nur unter Umständen und mit großem Aufwand möglich ist.

   b) Das verwendete Substrat sollte hochgradig enzymspezifisch sein (wird selten erfüllt, da z.B. Phosphatasen vielerlei Phosphorsäureester spalten).

   c) Das Substrat soll in Lösung so stabil sein, daß eine nicht enzymatische Reaktion ausgeschlossen werden kann.

4. Die beim Nachweis der Lokalisation des Enzyms erzeugten Reaktionsprodukte (oder zumindest das gewünschte Reaktionsprodukt) sollte unlöslich sein, um nach der Reaktion am Ort der Entstehung liegen zu bleiben und nicht zu diffundieren.

5. Die Reaktionsprodukte der enzymatisch katalysierten Reaktion müssen farbig sein, oder in eine farbige Verbindung übergeführt werden können.

6. Die Anzahl der Nachweisschritte ist möglichst gering zu halten, um die in gleichem Maße ansteigende Zahl der Fehlermöglichkeiten überschaubar zu halten.

7. Bakterielle Verunreinigungen sind zu vermeiden, da Bakterien eine große Zahl verschiedener Enzyme enthalten.

8. Das Substrat sollte, wenn möglich, die Fähigkeit haben, durch Zellmembranen hindurch zu diffundieren.

9. Wenn es bei der histochemischen Methode auf die Aktivität von Enzymen ankommt, muß das Substrat während der gesamten Inkubationsdauer in ausreichender Konzentration am Ort der Enzyme vorhanden sein.

10. Falls sich an die enzymatisch gesteuerte Reaktion noch eine chromogene Reaktion anschließt, so muß also für

$$R + B \longrightarrow RB$$

wobei R das Reaktionsprodukt der enzymatischen Reaktion, B die Substanz, die mit R einen farbigen Niederschlag, nämlich RB bildet, darstellt, das Gleichgewicht ganz auf der rechten Seite liegen und auch schnell erreicht werden, wenn für R allein eine Diffusion nicht ausgeschlossen werden kann.

Bedingungen für die Inkubation
(Puffer, pH, Salze, Temperatur)

Puffer, Salze, pH, Temperatur und Inkubationsdauer sollten die nach der Vorbehandlung des Schnittes verbleibende Enzymaktivität nicht negativ beeinflussen.
Die enzymatische Reaktion AB ——> A+B sollte so schnell wie möglich ablaufen, was unter Umständen durch Modifikation des Substrats zu erreichen ist.
So wurde z.B. von COHEN und TSOU durch Einfügen eines C-6-ständigen Bromatoms in den Naphtalinrest beim Nachweis der ß-D-Galaktosidase eine ca 5 - 10mal schnellere Umsetzungsgeschwindigkeit gefunden.
ZITTLE beschreibt 1951, daß beim Nachweis der alkalischen Phosphatasen boraxhaltige Puffer die Enzymaktivität in nicht mehr vertretbarem Maße hemmen. Auch Phosphatpuffer sind für den Nachweis von sauren und alkalischen Phosphatasen aus logischen Überlegungen heraus als unbrauchbar anzusehen. Bei der Wahl des optimalen pH ist nicht nur die Abhängigkeit von der enzymatisch gesteuerten Reaktionsgeschwindigkeit zu berücksichtigen, vielmehr muß auch die chromogene Folgereaktion in diese Überlegung mit einbezogen werden, ebenso die Forderung nach Unlöslichkeit des Farbstoffes bei diesem pH. Bei der Temperatur gilt grob: Eine Erhöhung um 10°C führt zu einer Verdoppelung der Umsetzungsgeschwindigkeit. Andererseits wiederum bewirkt eine Temperaturerhöhung eine schnellere Inaktivierung der Enzyme, die durch obengenannte Proteinnatur der Enzyme verursacht wird.

So gelten für histochemische Nachweise im allgemeinen 37°C Raumtemperatur als Norm.
NEUMANN konnte allerdings nachweisen, daß die durch Paraffineinbettung seiner Präparate verlorengegangene Enzymaktivität durch eine höhere Thermostabilität teilweise wieder wettgemacht wurde.
Wie oben schon erwähnt, nimmt die Enzymaktivität mit der Inkubationsdauer ab, vor allem als Folge der Anhäufung von Reaktionsprodukten und Verminderung des Substrats. Je länger aber die Inkubationszeit beträgt, umso dichter ist dann auch der Enzymnachweis an den Stellen, wo sich nur minimale Enzymkonzentrationen befinden, so daß in einem solchen Präparat nicht mehr zwischen Stellen höherer und niedriger Enzymaktivität unterschieden werden kann. Das in der Inkubationslösung gefundene R soll die Enzymaktivität nicht beeinflussen, aber doch so konzentriert vorhanden sein, daß B, vor allem wenn es löslich ist und damit diffusibel, nur unwesentlich diffundieren kann, bevor es zum chromogenen Produkt RB ausfällt.

Ganz allgemein lassen sich die Enzyme in fünf Gruppen einteilen:

1. Dehydrogenasen
2. Hydrolasen
3. Transferasen
4. Lysasen und Synthetasen
5. Isomerasen.

Die histochemischen Untersuchungen beschränken sich vor allem auf die Gruppen der Dehydrogenasen und der Hydrolasen.

1) Definition und Pathologie der Phosphatasen:

Die Phosphatasen, gehörig zur Gruppe der Hydrolasen, lassen sich in Phosphomonoesterasen und Phosphodiesterasen aufteilen. In jeder dieser beiden Gruppen gibt es sogenannte unspezifische Esterasen und solche, die sich durch hohe Substratspezifität auszeichnen, die also nur ein oder sehr wenig ähnliche Substrate hydrolysieren.
Die im klinischen Alltag relevanten Phosphatasen gehören zur Klasse der unspezifischen Monoesterasen, deren Substrate zahlreiche Monoester sind (z.B. 3' und 5' Monophosphate). Diese unspezifischen Monoesterasen kann man wiederum in vier Subtypen unterteilen, von denen drei ihr pH-Optimum im Sauren und eine im Alkalischen haben.
Neben diesem unterschiedlichen pH-Optimum sind die einzelnen Subtypen auch von Seiten verschiedener Aktivatoren und Inhibitoren gut zu unterscheiden. Aus leicht einsehbaren Gründen werden jedoch alle Phosphatasen von Phosphationen gehemmt, was natürlich auch dann den Phosphatpuffer als unbrauchbaren pH-Stabilisator impliziert.
Wie bereits oben erwähnt, haben drei der vier unspezifischen Phosphatmonoesterasen ihr pH-Optimum im Sauren, und zwar wie folgt:

Typ II pH: 5,2 - 5,4

Typ III pH: 3,4 - 4,2

Typ IV pH: 5,2 - 6,2

Bei allen Tieren werden Typ II und IV gefunden, Typ III zusätzlich in Pflanzen.

ROCHE fand 1950 Typ II mit besonders hoher Aktivität vor allem in Prostata, Milz und Leber. TSUBOI und HUDSON bestätigten 1955 diese Ergebnisse und beschrieben die höchste Aktivität bei Anwesenheit des Acetatpuffers.

NOVIKOFF, GIANETTO und DeDUVE haben an der Leber, WAKED und KERR am Gehirn nachgewiesen, daß der größte Teil dieses Enzyms in dem jeweiligen Organ in einer Art unlöslicher Form vorliegt und sedimentär zwischen der Fraktion der Mitochondrien und der Mikrosomen zu finden ist.

DeDUVE nannte diese Partikel Lysosomen, für die somit die sauren Phosphatasen zum Indikatorenzym wurden.

Wird allerdings das Gewebe eingefroren und wieder aufgetaut, erscheint die saure Phosphatase in obengenannten Geweben ebenso wie in der unbehandelten Prostata, nämlich in einer löslichen Form, was wohl durch eine Strukturveränderung und eine damit verbundene Permeabilitätsänderung der lysosomalen Membran beim Einfrierungs- und Auftauungsvorgang zu erklären ist.

RUTHENBERG und SELIGMAN berichteten 1955 erstmals über die starke Löslichkeitszunahme der sauren Phosphatasen in tiefgefrorenen Gewebeschnitten.

Wie bereits erwähnt, kommt Typ III vor allem in niederen Pflanzen vor. Es wurde aber auch schon über geringe Spuren in Leber und Milz berichtet. Typ IV findet man vor allem in Erythrozyten, Hefen und Bakterien. Diese Phosphatase unterscheidet sich vom Typ II vor allem durch ihre Aktivatoren und Inhibitoren (diese stellen fast antagonistische Verhältnisse dar).

BARKA konnte 1961 vier verschiedene saure Phosphatasen in der Rattenleber durch elektrophoretische Auftrennung nachweisen.

HOLTER und LOWY berichteten 1960 über zwei verschiedene saure Phosphatasen in der Amöbe chaos chaos, eine mit pH-Optimum 4,5, die andere mit 5,4.

NEIL und HORNER zeigten 1962 an der Meerschweinchenleber zwei verschiedene saure Phosphatasen:

1. eine Glyzerophosphat-Phosphatase in den Mikrosomen
2. eine para-nitrophenyl-Phosphat-Phosphatase in den Mikrosomen.

Bedingt durch die Zugehörigkeit zu unterschiedlichen Zellorganellen war auch eine sedimentatorische Trennung möglich.

IDAWA et al. wies 1964 in Pflanzen drei verschiedene saure Phosphatasen nach.

Was die Verteilung der sauren Phosphatasen im Gewebeschnitt betrifft, so beschrieb BURSTONE 1958 in der Leber eine peribiläre Verteilung in den Hepatozyten und eine Anhäufung um die Portalfelder.

Die größte Aktivität der sauren Phosphatasen war immer in den Lysosomen lokalisiert.
GEDIGK et al. und NOVIKOFF wiesen in einem Teil dieser Zellorganellen verschiedene Speicher- und Zellgranula nach. Daraus ergab sich der Schluß, daß diese zytoplasmatischen Einschlußkörperchen direkt mit dem Abbau von zellulären Strukturen in Verbindung stehen müssen.
Nach MERKER lassen sich die Lysosomen folgendermaßen einteilen:

1. Primäre Lysosomen:
   Sie enthalten nur hydrolytische Enzyme und haben noch nicht an einem Verdauungsvorgang teilgenommen, z.B. die sog. Golgi-Vesikel in den Makrophagen.

2. Sekundäre Lysosomen:
   Enthalten neben den hydrolytischen Enzymen noch exo- und endogenes Material, das bereits zur Verdauung inkorporiert worden ist.

Aus diesem Grunde werden sie auch als Phagolysosomen bezeichnet. Ihre Entstehung stellt man sich als Konfluat von primären Lysosomen und sogenannten Phagosomen vor. Dabei bezeichnet man als Phagosomen intraplasmatisch gelegene und von einer Membran umgebene Partikel, die durch Aufnahme zellfremder Substanz entstehen. Die bei dieser Art der intrazellulären Verdauung entstehenden Produkte können dann, falls sie klein sind, die Organellmembran passieren, oder sie bleiben liegen und bilden dann dort

die nachweisbaren Speicherpigmente, falls sich die Zelle nicht mit Hilfe der sogenannten Exozytose des gesamten Partikels entledigt. Neben Siderin oder Lipofusin kommen hier vor allem Fremdkörper, z.B. Tusche in Frage, was experimentell genützt werden kann.

Einige anorganische Fremdkörper, so z.B. Silicium-Dioxyd-Verbindungen werden dann durch Bindung an glycoproteidhaltige Trägersubstanzen nach GEDIGK unschädlich gemacht.

Als Ursachen für Vergrößerung und Vermehrung von Lysosomen sind, neben den entzündlichen Vorgängen, wie auch anhand dieser Arbeit gezeigt werden soll, folgende Mechanismen möglich:

1. Das in die Lysosomen zur Verdauung aufgenommene Material ist im Überangebot vorhanden, so daß der Abbau mit der Aufnahme nicht mehr Schritt halten kann. Ein solcher Mechanismus ist wohl die Ursache für die hyaline Eiweißspeicherung der Hauptstückepithelien, wie sie bei hochgradiger Proteinurie (Hämolyse Plasmazytom) zu finden ist.

2. Bedingt durch das angeborene Fehlen einer oder mehrerer lysosomaler Enzyme kann ein an sich verdaubares Substrat nicht aufgebaut werden, was dann zu einer fatalen Anhäufung innerhalb der Lysosomen führt. Ein solches Verhalten wird beim Morbus Pompe, eine Glycogenose, bedingt durch das Fehlen einer lysosomalen α-Glucosidase, an-

genommen. Dies ist eine Krankheit, die fast ausschließlich innerhalb von wenigen Monaten zum Tode führt.

3. Zu einer Überladung der Lysosomen kann es aber auch kommen, wenn es für das aufgenommene Material keine Enzyme zum Abbau gibt. Hierfür wäre die sogenannte "Vakuolisation" der Hepatozyten und besonders der Kupfferschen Sternzellen, sowie der Hauptstückepithelien der Nieren nach Applikation von Plasmaexpandern, wie z.B. Dextran, Polyvinylpyrrolidon zu erwähnen.

2. Methoden zur Darstellung der sauren Phosphatasen

Im wesentlichen gibt es drei Methoden, die zur Darstellung der sauren Phosphatasen Verwendung finden.

a) Bleisalzmethode nach GOMORI

GOMORI beschrieb bereits 1941 die nach ihm benannte Methode. Er verwendete dabei als Substrat der enzymatischen Reaktion 3%iges Natrium-I-Glycerophosphat, als pH-Stabilisator O.O5 mol Acetatpuffer entsprechend einem pH von 5,3 und Bleiionen in Form von Bleiacetat. Das nun durch die im Gewebe vorhandene saure Phosphatase freigesetzte Phosphat verbindet sich mit den ebenfalls in Lösung befindlichen Bleiionen zum unlöslichen Bleisulfat, das nach PRATT in Form eines Pyromorphits vorliegen soll, einem weißen Salz, aus dem sekundär durch Zugabe von Ammoniumsulfid sich das schwarze Bleisulfid bildet.

Zuvor empfiehlt GOMORI allerdings noch, das im Gewebe

gelöste und wohl auch teilweise an Proteine gebundene Bleiacetat mit 2%iger Essigsäure zu entfernen, um einen Bleisulfidniederschlag außerhalb der Bereiche mit sauren Phosphatasen im Gewebe weitgehend auszuschließen. Die genaue Darstellung einer etwas modifizierten Methode nach GOMORI, mit der in dieser Arbeit die Leberpunktate der untersuchten Patienten behandelt wurden, erfolgt weiter unten.

b) Azo-Farbstoffmethode

MENTEN et al. beschrieb 1944 zur Darstellung der alkalischen Phosphatase eine Azo-Farbstoffmethode, bei der ein durch die enzymatische Reaktion freigesetzter Naphtylrest mit einer Diazoniumverbindung in einen unlöslichen Azo-Farbstoff übergeführt wird.

SELIGMAN und MANHEIMER wendeten 1949 die Azo-Farbstoffmethode als erste auf die histochemische Darstellung der sauren Phosphatasen an und wählten als Substrat Calcium-I-Naphtylphosphat und als Diazotat Anthrachinon-I-Diazoniumchlorid. Um nun möglichst genaue Angaben über die Lokalisation von Enzymen in Geweben machen zu können, ist es unbedingt erforderlich, daß die Diffusion nach der enzymatischen Hydrolyse sowohl vor der Kuppelung mit dem Diazoniumsalz, als auch danach nicht ins Gewicht fallen darf. Man hat dies durch Wählen eines für das zu untersuchende Enzym nicht optimalen pH's als auch

durch mannigfaltige Veränderungen sowohl des Substrats als auch des Diazotates versucht.

Für Enzyme mit saurem pH-Optimum besteht auch die Möglichkeit der zweizeitigen Farbstoffreaktion. Dabei wird zunächst bei saurem pH mit dem Substrat inkubiert, um anschließend unter Zugabe des Diazotates im Alkalischen zu kuppeln.

c) Indoxylester-Methoden

BARNETT und SELIGMAN beschrieben 1951 und HOLT et al. 1952 eine weitere Methode zur Darstellung von Hydrolasen. Als Substrat diente dabei löslicher Indoxylester, der durch die enzymatische Reaktion gespalten wird. Der entstandene Indoxylrest verbindet sich anschließend im alkalischen pH spontan mit atmosphärischem Sauerstoff zu einem unlöslichen Farbstoff. Bei saurem pH jedoch läuft diese spontane Reaktion so langsam ab, daß die zwischenzeitliche Diffusion zu nicht tolerablen Fehlern führt. Diesen Nachteil suchten u.a. HOLT 1954 durch Zugabe von oxidierenden Reagentien auszugleichen. Dabei stellte sich jedoch heraus, daß dadurch die Enzymaktivität übermäßig gehemmt wird. Somit ist die Indoxylestermethode zur Darstellung der sauren Phosphatasen weitgehend zu Gunsten der beiden anderen Methoden verlassen worden.

Die obengenannten Methoden stellen natürlich nur neben der Möglichkeit der Enzymlokalisation eine semiquantitative Methode dar, da die Aktivität über den Umweg einer Farbreaktion gemessen wird, und diese dann vom Betrachter

durch das Mikroskop subjektiv bewertet wird.
Um zumindest den letzten Schritt zu objektivieren, führte NEUMANN 1950 photometrische Dichtebestimmungen der Präzipitate durch.
MANIGAULT verwendete aus diesem Grund radioaktive markiertes Glycerinphosphat.
KORZIK, WARCHOL und ACRIMOWICZ führten 1971 ihre quantitativen Bestimmungen mittels Laserabtastung durch.

III. GESCHICHTE DER STERNZELLEN

Bereits vor von KUPFFER wurden die später nach ihm benannten Leberzellen schon in der Literatur erwähnt und zwar als besondere Art von Bindegewebszellen oder kontraktile Elemente der Leber. Die Eigenschaft, daß diese Zellen zinnoberführend sind, wurde als phagozytische Eigenschaft gedeutet.
Erst Jahre später wurden diese Zellen als "phyroll-cells" und als Wanderzellen beschrieben.
Der Unterschied zu den epithelialen Zellen der Leber ist der, daß diese nie Farbstoff enthielten. Im Jahre 1913 wurden diese zur Phagozytose befähigten Leberzellen von LANDAU und ASCHOFF dem RES zugeordnet.
Schon im Jahre 1876 beschreibt von KUPFFER diese Zellen als sternförmig und COHN bezeichnet sie im Jahre 1904 in einer Abhandlung erstmals als "von Kupffersche Sternzellen". Die Darstellung der Zellen gelang laut von KUPFFER

durch Applikation von Gold-Chlorid, die sich dann als schwarze sternförmige Gebilde zwischen den Leberzellen und in der Nähe von Kapillaren zeigten. Bedingt durch den sternförmigen Aufbau glaubte von KUPFFER zunächst, daß es sich um eine Art Nervenzellen handeln könne. Seine Schüler jedoch waren anderer Meinung und deuteten sie als Bindegewebszellen oder eingewanderte Leukoblasten. Später jedoch war von KUPFFER von der Eigenständigkeit "seiner" Zellen überzeugt, vor allem auf Grund der Tatsache, daß sie immer in unmittelbarer Nachbarschaft sowohl zu den Kapillaren, als auch zu den Hepatozyten zu finden waren, und ordnete sie deshalb den von WALDEYER schon anderweitig beschriebenen perivasculären Zellen zu. Doch gerade von KUPFFER war es, der diesen Zellen eine ganze Arbeit widmete und von PLATEN, RATHE und RÜTIMEYER bestätigten diese im Rahmen einer Dissertation.

Jedoch im Jahre 1898 änderte von KUPFFER seine Meinung und behauptete nun, daß es sich bei den Zellen wohl um Bestandteile der Gefäßwände handeln müsse. Anhand eines Versuches, bei dem er Kapillaren von den Leberzellwänden trennte, stellte er fest, daß die Sternzellen immer noch Kontakt zu den Epithelialzellen der Kapillarwände hatten. Von KUPFFER konnte aber keine Zellgrenzen des Endotheliums nachweisen und kam durch einen Versuch zu dem Ergebnis, daß es sich um ein Syncytium handeln müsse. Er injizierte bei seinen Versuchstieren Tetrachlorkohlenstoff in die

Portalvenen und stellte fest, daß hier ein intervaskuläres Netzwerk vorliegen muß.
Zusammenfassend kann man also sagen, daß von KUPFFER folgende Thesen über die Sternzellen aufstellte:

1. Die Zellen gehören zum Endothel der portalen Kapillaren.
2. Die sternähnliche Form kommt durch besondere Aktivität des Protoplasmas zustande.
3. Das Endothelium sei als Symzytium aufzufassen.
4. Die phagozytische Eigenschaft gilt nicht nur für körperfremde Stoffe, sondern auch für körpereigene, z.B. überalterte rote Blutkörperchen.

CHON beschäftigte sich dann im Jahre 1902 in seinen Versuchen mit dem antibakteriellen Effekt von kolloidalem Silber, das bei intravenöser Applikation eine gute Darstellung der Kupfferschen Sternzellen ergab.
ATERMANN gelang dann 1952 ein weiterer wichtiger Schritt in der Erforschung der Kupfferschen Sternzellen. Mit Hilfe der Schiff'schen Perjodsäure-Reaktion konnte er Kohlehydrate in Granula und Vacuolen nachweisen.
NOVIKOFF und ESSNER haben 1960 in ihrer Arbeit schließlich die Identität dieser kohlehydrathaltigen Einschlußkörper, die DeDUVE als Lysosomen bezeichnete, und der früher durch Vitalfärbung erzielten plasmatischen Partikelfärbung nachgewiesen.

IV. ÜBERBLICK ÜBER DIE FUNKTION DER KUPFFERZELLEN AUS HEUTIGER SICHT

Wie bereits erwähnt, gehören die Kupfferschen Sternzellen zum RES, sind Makrophagen, spielen eine Rolle im Eisen-, Fett- und anderen Stoffwechselbereichen und wohl auch in der Reaktion des Körpers auf neoplastische Prozesse.
Die am längsten bekannte Eigenschaft ist die Aufnahme von körperfremden Stoffen, speziell von Farbstoffen.
Diese Phagozytose läßt sich in drei Schritte unterteilen:

1. Kontaktaufnahme zwischen Zellmembran und Partikel
2. Einverleibung
3. Verdauung, soweit die Zelle über den für den Partikel entsprechenden Verdauungsmechanismus verfügt.

KAY zeigte 1977, daß auch im Bereich des immunologischen Gedächtnisses Zusammenhänge bestehen, die sich entweder in einer Antigenaufnahme und der Weitergabe deren Information an die Lymphozyten äußert oder einfach als Antigenspeicher dient, um die Information nicht zu verlieren.
DONALD und TENNENT beschrieben 1975, KAY und DOUGLAS 1977 die Sekretion von diversen Substanzen "in vitro" durch Makrophagen:
Hydrolase, Elastase, Transferrin, Erythropoetin, Lysozym, Hyaluronidase, Pyrogen, Prostaglandine, T- und B-Lymphozyten stimulierende Faktoren, Inhibitoren und Stimulatoren von Fibroblasten und Interferron.

Die Sternzellen unterscheiden sich, laut CARR, in ihren speziellen Aufgaben von anderen Makrophagen (1977):

1. Säuberungsfunktion durch Phagozytose (z.B. Blutreinigung beim Schock)
2. Immunologische Funktion: Kontrolle von Antigenüberschuß, Spaltung bei Anaphylaxie.
3. Neoplasie: Keine effektive Funktion.
4. Bei Splenektomie und hämolytischer Anämie: Abbau von Erythrozyten.
5. Teilnahme am Fettstoffwechsel
6. Sekretion von Pyrogen, CSF, Collagenase, Complement und eventuell auch Erythropoetin.

LOEGERING, KAPLAN und SABA glaubten aus ihrer Arbeit ableiten zu können, daß die Kupfferschen Sternzellen auch bei der Reaktion des Körpers im Schock zumindest mittelbar eine Rolle spielen und zwar bezüglich der Reinigung des Blutes von Mikrothromben, Bakterien, Endotoxinen, Thrombozytenaggregation und lysosomalen Enzymen. Bezüglich der Beweglichkeit der Kupfferschen Sternzellen lassen sich allerdings keine konkreten Aussagen machen, obwohl, bedingt durch deren Funktion als Makrophagen, dies zu erwarten wäre.

Kupfferzellen filtern Antigene aus dem Blut. Experimentell läßt sich z.B. nach intravenöser Applikation von T_4-Bakteriophagen in der Leber die 12-fache Konzentration als in der Milz nachweisen.

Als Antikörperproduzenten sind aber, laut JUCHLEY, die Sternzellen nur in unzureichendem Maße befähigt. Jedoch erhöht sich die Zahl der Sternzellen bei Antigenbelastung, was MORE und NELSON 1972 an Mäuselebern nachgewiesen haben. So findet man auch am menschlichen Leberpunktat sowohl bei einer Hepatitis, als auch bei einer Begleithepatitis oder auch unter Umständen bei sonstigen Infekten eine Zunahme der Sternzellen, die sich gelegentlich zu sogenannten Retothelkörperchen zusammenlagern können.

THOMAS, McSEVEEN und WHITE vertreten die Ansicht, daß bei der Zirrhose die erhöhte Gammaglobulinämie auch durch die fehlende Säuberungsfunktion der Kupfferschen Sternzellen, von aus dem Darm resorbierten Endotoxinen und die durch Strömungsumkehr erhöhte Antigenkontamination der Milz zustande kommt.

BRADFIELD bezeichnet diese Funktion der Sternzellen als "control of spillover".

TREADWELL und SANTOS-BUCH beschreiben bei der Anaphylaxie ein Auflösen der Kupfferschen Sternzellen und damit eine Freisetzung von sauren Phosphatasen in die Blutbahn.

Es sind wohl auch diese Zellen, die beim splenektomierten Patienten den Abbau der überalterten Erythrozyten übernehmen, bei normalen Verhältnissen ist dies aber nur eine untergeordnete Funktion.

Was den Fettstoffwechsel betrifft, so sind die Kupfferschen Sternzellen nach BYERS sicher in hohem Maße daran beteiligt, der Sinn dieser Funktion ist aber noch unklar.

Die häufig beobachteten Fettstoffwechselstörungen bei Zirrhotikern ließen sich somit auch teilweise auf die obengenannte fehlende Säuberungsfunktion zurückführen.
DINORELLO, BOCKEL und ATKINS sehen in Bezug auf die sekretorischen Fähigkeiten der Sternzellen vor allem die Abgabe von Pyrogen als die wichtigste an.
FUJIMARE, SAHAI und ODO beschrieben 1973 die Sekretion von Kollagenase.

V. ERGEBNISSE ANDERER AUTOREN

WISSE beschreibt die ultrastrukturelle und funktionelle Unveränderthеit von isolierten Kupfferzellen an Ratten, über die allerdings nur wenige spärliche Untersuchungen existieren.
Durch Eisenbelasung ändert sich die Struktur der Zellen, wie es schon von ROUS und BEARD 1934 bei der Eisentrennungsmethode beschrieben wurde:
Durch z.B. Jectofer wird die Aktivität der sauren Phosphatasen bis auf das 13-fache gegenüber der normaler Hepatozyten angehoben (WINCEK et al.).
Bei einer anderen Trennungsmethode (KNOOK et al.) wurde nach Zentrifugieren die Aktivität der sauren Phosphatasen nur auf das Doppelte gegenüber der der Hepatozyten gesteigert. BERG und BOMAN sahen sehr geringe Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen von Tieren, nahmen als Ursache eine Zerstörung der Lysosomen, die ja mit Eisen beladen sind, bei der magnetischen Trennung an.

Nichtsdestotrotz erfolgt aber eine Induktion der sauren Phosphatasen z.B. durch Triton WR 1339 oder Jectofer, wie KNOOK bewies.

Kupffersche Sternzellen allgemein zeigen eine Morphologie und ein Verhalten wie Makrophagen, eine sehr variable Erscheinungsform, die im Lichtmikroskop und Dunkelfeld mit der Peroxidase-Färbung meist als sternförmig zu beobachten sind. Ferner liegen diese Zellen immer einzeln auf oder in der Endothelschicht und auch teilweise im Disse'schen Raum. Sie sind beweglich und ein großer Teil der Zelloberfläche wird von Blut umspült. Diese Oberfläche ist unregelmäßig mit Mikrovilli und läppchenartigen Ausbuchtungen versehen. Im Disse'schen Raum besteht eine Verzahnung mit den Hepatozyten.

Kupfferzellen haben eine hohe phagozytische Fähigkeit. Dies läßt sich dadurch belegen, daß bereits drei Minuten nach einer i.v.-Applikation von kolloidalem Gold dieses schon an der Oberfläche nachweisbar ist. Bei dem gleichen Versuch ist das Gold in den sinusoidalen Zellen nicht nachweisbar. WISSE et al. zeigten 1974 an der Rattenleber, daß bereits 10 min. nach der i.v.-Applikation von 0.81µ großen Latexpartikeln diese in den Lysosomen der Kupfferschen Sternzellen nachweisbar sind.

ALLISON und BURSTONE untersuchten 1963 die Veränderung der Leberzellenzyme von Mäusen nach Infektion mit einem Mäusehepatitisvirus (MHV-3), an dem die Mäuse meist innerhalb von 3 - 6 Tagen starben. In der normalen Mäuseleber

findet sich die höchste Aktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferzellen, daneben geringe Aktivität in pericanaliculärer Anordnung in den Hepatozyten. 24 Stunden post Infectionem war der einzige ins Auge fallende Unterschied ein Intensitätsanstieg des Niederschlages in den Sternzellen. 70 Stunden post Infectionem zeigte sich eine lokale Parenchymzerstörung mit Rundzellinfiltration. Nur in diesen Bereichen ließ sich eine deutliche Aktivitätssteigerung der sauren Phosphatasen sowohl in den Hepatozyten, als auch in eingewanderten Monozyten nachweisen.

ALLISON und BURSTONE konnten jedenfalls neben der allgemeinen Aktivitätsänderung der Enzyme bei MHV-3-infizierten Mäusen eine ganz charakteristische Änderung des Verteilungsmusters der sauren Phosphatasen beschreiben.

So kam es zu einem pericanaliculären Anstieg der alkalischen Phosphatasen zusammen mit einer an bestimmten Stellen erhöhten Aktivität der sauren Phosphatasen bei gleichzeitiger Abnahme der Esterase in Zusammenhang mit histologisch beschriebenen Zellschädigungen und Nekrosen.

Bereits 1961 wiesen OLD et al. nach, daß es nach Inokulation von Tumorextrakten zu einer deutlichen Vermehrung der sauren Phosphatasen in den Kupfferschen Sternzellen kommt.

LANDSDOWN und COID stellten 1974 fest, daß eine Infektion trächtiger Mäuse mit Coxsackie-Viren zu fetalen Mißbildungen und Wachstumsstörungen führt, begleitet von einer

Pankreatitis und Hepatitis der Muttermaus. Die Infektion erfolgte am 8. Tag der Trächtigkeit und bereits 6 Tage post Infectionem trat eine Veränderung in der Verteilung der sauren Phosphatasen auf, und zwar stieg die Aktivität stark im periportalen Bereich an und verminderte sich etwas im antrolobulären Bereich, wogegen die Zahl der Autophagosomen (große Granula) in beiden Bereichen zunahm. LODJA wies 1971, wie schon vorher DeDUVE (1963), TAPPEL et al. (1963) und STRAUS (1967) Glucuronidase in den Lysosomen nach. Dabei zeigte sich neben einer deutlichen Darstellung in den Kupfferzellen eine Betonung des Gallepoles und eine pericanaliculäre Anordnung. Die Zellen in der Peripherie des Läppchens färbten sich dabei stärker an als die im Zentrum.

Neben der diffusen Darstellung zeigte sich eine Betonung in den Granula, die als Lysosomen identifiziert wurden. WINCKLER und WESTPHAL konnten bei i.v.-Applikation von Tetrozylin eine erhöhte Fluoreszenz in den Kupfferzellen als Maß für eine erhöhte Anreicherung in diesen Zellen nachweisen, im Gegensatz zu der nur mäßigen Fluoreszenz in den Hepatozyten.

Als gemeinsames Ergebnis dieser in der Literatur beschriebenen Experimente, bei denen die Versuchstiere entweder infiziert oder sonstigen, meist toxischen Einflüssen ausgesetzt wurden, läßt sich folgendes festhalten:

1. Es kommt regelmäßig zu einer Beteiligung der Kupfferschen Sternzellen.
2. Die Aktivitätsverteilung der Enzyme ändert sich.
3. Die Aktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferzellen erhöht sich fast ausnahmslos.

Unter der Kenntnis:

1. der speziesgebundenen Enzymausstattung der Kupfferschen Sternzellen
2. der individuellen Reagibilität dieser Makrophagen
3. dem Fehlen größerer Beobachtungsreihen beim gesunden und kranken Menschen

erscheint es sinnvoll, eigene Untersuchungen an einem großen, klinisch belegtem Material auszuwerten.

VI. EIGENE ERGEBNISSE

1. Patientenkreis:

Es wurden insgesamt 1904 Leberstanzen von Patienten mit Lebererkrankungen untersucht:

1271 Männer = 66.8%

633 Frauen = 33.2%

die sich wie folgt auf die einzelnen Krankheitsbilder verteilen:

Virushepatitis	527 Stanzen
Leberzirrhose	255 Stanzen
Fettleber	543 Stanzen
chron. aggressive Hepatitis	283 Stanzen
chron. persistierende Hepatitis	294 Stanzen
Summe	1904 Stanzen

Die Zuordnung zum jeweiligen Krankheitsbild erfolgte hauptsächlich auf Grund der histologischen Untersuchung im HE-Präparat.

Daneben wurden 24 Stanzen von Patienten ohne Lebererkrankung zum Vergleich untersucht.

Auf das Fehlen einer Lebererkrankung wurde geschlossen, wenn

1. der Stanzzylinderbefund unauffällig war
2. die Serumparameter im normalen Bereich lagen
3. die Anamnese keine Lebererkrankung erwarten ließ.

Die Aktivität der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen wurde nach folgendem Punktesystem eingeteilt:

O : kaum nachweisbare Bleisulfidgranula

\+ : gering bis mäßiger Niederschlag

++ : deutlicher Niederschlag

+++ : sehr starker Niederschlag, daneben Sternzellen meist zahlenmäßig vermehrt.

2. Beschreibung der bei den eigenen Untersuchungen genutzten Methode:

Die Leberstanzzylinder wurden mit der MENGHINI-Nadel durch Blindpunktion oder unter laparaskopischer Sicht entnommen und sofort am Krankenbett auf Kohlensäureschnee im Thermobehälter eingefroren und in den Kryostaten (DITTES-SUSPIVA) verbracht.

Anschließend wurden:

1. die 12µ dicken Gefrierschnitte auf dem Objektträger ausgebreitet
2. bei 4°C 30 Minuten lang in 4%igem Formalin fixiert
3. anschließende Inkubation für 60 Minuten in folgendem Medium
   a) Natrium-Acetat-Lösung 0.1 molar
   b) Essigsäurelösung 0.1 molar (a) und b) sind bei 4°C im Kühlschrank aufzubewahren)
   c) 17.6 ml von Lösung a) werden mit 7.4 ml von Lösung

b) zusammengegeben und mit aqua dest. auf 50 ml aufgefüllt. Die so entstandene Pufferlösung wird zu gleichen Teilen auf zwei Gefäße verteilt

d) Zugabe von 0.065 g Bleinitrat in das eine Gefäß

e) Zugabe von 0.095 g Natrium-ß-Glycerophosphat in das andere Gefäß

f) d) und e) zusammengießen und mit einem Papierfilter filtrieren. Dieses Medium hat jetzt einen pH-Wert von 5.0.

4. Wässerung des Präparates 4 Min. in aqua dest.
5. Entwicklung für 1 - 2 Min. in Ammoniumsulfid-Lösung (1 : 40 aqua dest.)
6. 1 - 2 Sek. unter fließendes Wasser halten
7. Einschluß unter Deckglas mit Glyceringel.

3. Histochemische Ergebnisse:

a) Referenzgruppe (24 Stanzen) ohne Lebererkrankung.

Tab. 2: Häufigkeitsverteilung der Sternzellaktivitätsgruppen bei der gesunden Menschenleber.

O	: n =	8	= 33.3%
+	: n =	12	= 50.0%
++	: n =	4	= 16.7%
+++	: n =	0	= 0 %

Neben einer perikanalikulären Verteilung in den Hepatozyten zeigte sich meist nur ein mäßiggradiger Niederschlag in den Kupfferzellen, eine deutlich gesteigerte Aktivität fehlte.

b) Virushepatitis (n = 529):

Tab. 3: Häufigkeitsverteilung der Sternzellaktivitätsgruppen bei der Virsuhepatitis.

0	: n = 20 =	3.8%
+	: n = 73 =	13.8%
++	: n =286 =	54.1%
+++	: n =150 =	28.3%

Bei der Virushepatitis zeigte sich eine deutliche Aktivitätszunahme der sauren Phosphatasen in den Sternzellen, in 82,4% war eine deutliche bis sehr starke Aktivität nachweisbar.

c) Leberzirrhose (n = 255):

Tab. 4: Häufigkeitsverteilung der Sternzellaktivitätsgruppen bei der Leberzirrhose.

0	: n = 25 =	9.8%
+	: n = 80 =	31.4%
++	: n = 76 =	29.8%
+++	: n = 74 =	29.0%

Wenn man von der Gruppe ohne nachweisbare Aktivität absieht, verteilt sich das Kollektiv der Leberzirrhotiker gleichmäßig auf die drei übrigen Aktivitätsgruppen, entsprechend der chronischen, oft in Schüben verlaufenden Erkrankung und der zufällig auf die einzelnen Phasen fallenden Punktionszeitpunkte.

d) Fettleber (n = 543):

Tab. 5: Häufigkeitsverteilung der Sternzellaktivitätsgruppen bei der Fettleber jeder Ätiologie.

O : n = 72 = 13.3%

\+ : n = 236 = 43.5%

++ : n = 180 = 33.1%

+++ : n = 55 = 10.1%

Bei der Fettleber jedweder Ätiologie liegt der Hauptanteil im Bereich mittlerer Aktivität (76.6%). Wenn man sich jedoch auf das Kollektiv der diabetogenen Fettleber beschränkt, so ergibt sich folgende Verteilung: (n = 143):

Tab. 6: Häufigkeitsverteilung der Sternzellaktivitätsgruppen bei der diabetogenen Fettleber.

O : n = 25 = 17.5%

\+ : n = 82 = 57.3%

++ : n = 28 = 19.6%

+++ : n = 8 = 5.6%

die sich nur noch unwesentlich vom Normalkollektiv unterscheidet.

e) Chronisch aggressive Hepatitis (n = 283):

Tab. 7: Häufigkeitsverteilung der Sternzellaktivitätsgruppen bei der chronisch aggressiven Hepatitis.

O	: n =	17	= 6.0%
+	: n =	48	= 17.0%
++	: n =	116	= 41.0%
+++	: n =	102	= 36.0%

entsprechend der chronisch aktiven Entzündung deutliche Zunahme der Aktivität der sauren Phosphatase in den Sternzellen, Verteilung ähnlich wie bei der Virushepatitis.

f) Chronisch persistierende Hepatitis (n = 294):

Tab. 8: Häufigkeitsverteilung der Sternzellaktivitätsgruppen bei der chronisch persistierenden Hepatitis.

O	: n =	14	= 4.8%
+	: n =	137	= 46.6%
++	: n =	103	= 35.0%
+++	: n =	40	= 13.6%

Verteilung wie bei Fettleber mit Hauptanteil im mittleren Aktivitätsbereich.

Zusammengefaßt ergaben sich drei verschiedene Verteilungsmuster bei den untersuchten Leberkrankheiten.

a. Hauptanteil im Bereich hoher Aktivität bei der Virushepatitis und der chronisch aggressiven Hepatitis. (Abb. 1, Abb. 2)

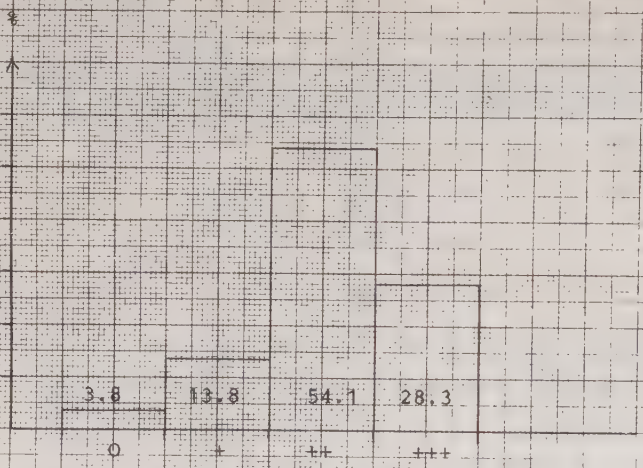

Abb. 1: Häufigkeitsverteilung der Sternzell-aktivitätsgruppen bei der Virushepatitis (n = 529).

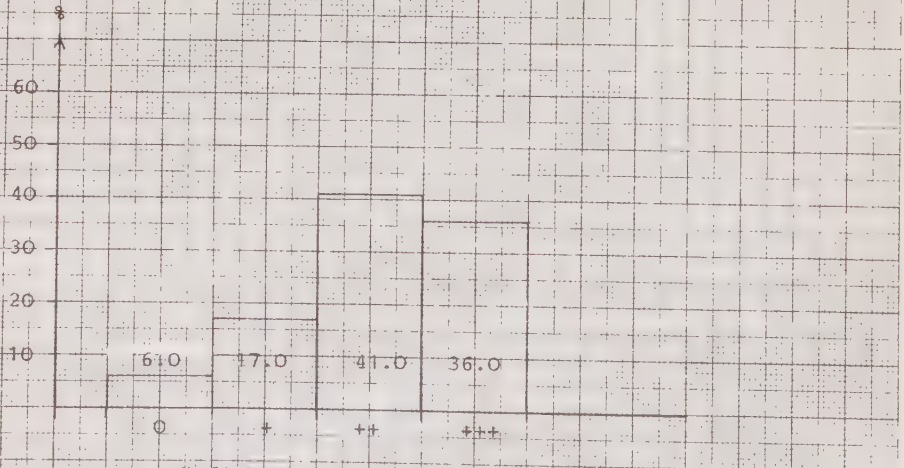

Abb. 2: Häufigkeitsverteilung der Sternzell-aktivitätsgruppen bei der chronisch aggressiven Hepatitis (n = 283).

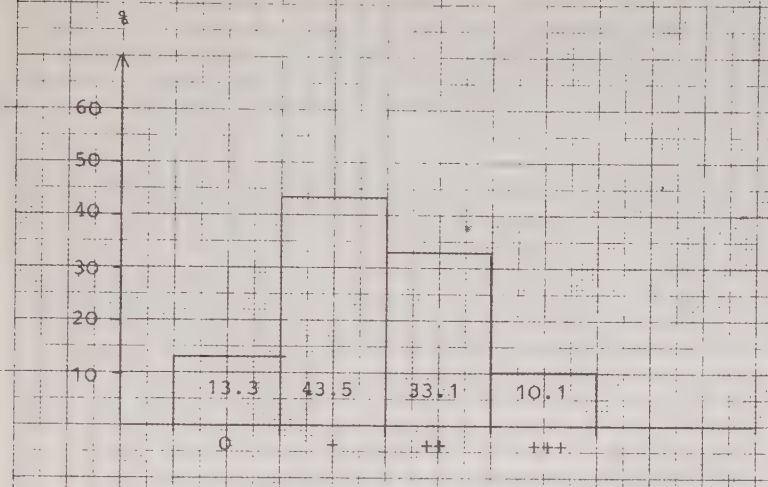

Abb. 3: Häufigkeitsverteilung der Sternzell-aktivitätsgruppen bei der Fettleber (n = 543).

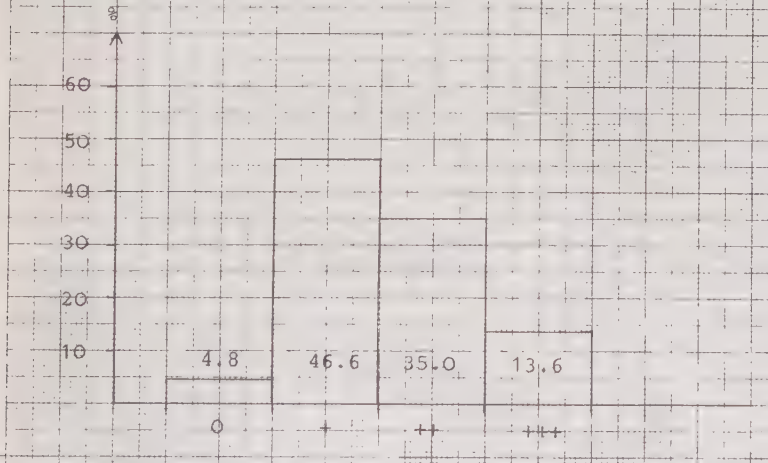

Abb. 4: Häufigkeitsverteilung der Sternzell-aktivitätsgruppen bei der chronisch persistierenden Hepatitis (n = 294).

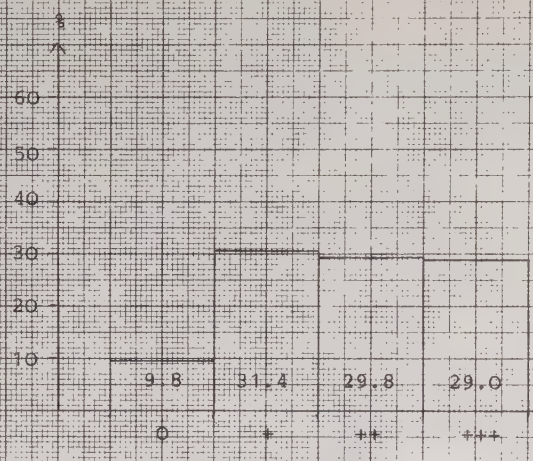

Abb. 5: Häufigkeitsverteilung der Sternzell-aktivitätsgruppen bei der Lebercirrhose (n = 255).

ß. Hauptanteil im mittleren Aktivitätsbereich bei der Fettleber und der chronisch peristierenden Hepatitis (Abb. 3; Abb. 4).

γ. Ausgeglichene Verteilung bei der Leberzirrhose (Abb. 5).

4. Die Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen im Vergleich mit anderen Parametern.
Desweiteren wurde untersucht, inwieweit die Aktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferzellen mit den üblichen klinisch-chemischen Serumparametern und anderen histotopochemischen Veränderungen korreliert.
Von den Serumparametern wurden untersucht:

Glutamat-Oxalat-Transaminase
Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Cholesterin-Spiegel
γ-Globuline
Eisenspiegel
Bilirubin
Bromthaleintest

Histotopochemisch wurde verglichen:

Siderinablagerungen in den von Kupfferschen Sternzellen
Hepatozytenverfettung

A) Zusammenhänge mit klinisch-chemischen Parametern

a) Transaminasen:

Tab. 9: GOT-Aktivität im Serum im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

GOT-Aktivität i.Serum / Sternzell-aktivität	über 40 U/l		unter 40 U/l		GOT bestimmt in n
	n	%	n	%	
0	59	39.9	89	60.1	148
+	338	58.9	236	41.1	574
++	454	59.7	307	40.3	761
+++	279	66.3	142	33.7	421
Summe	1130		774		1904

Aus Tab. 9 läßt sich ableiten, daß, je höher die Aktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferzellen ist, umso häufiger tritt eine erhöhte Aktivität der GOT im Serum auf.
Dieses Verhalten wird noch deutlicher, wenn zusätzlich noch eine Erhöhung der GPT im Serum vorliegt, wie aus folgender Tabelle hervorgeht.

Tab. 10: GOT und GPT im Serum erhöht im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

Transaminasen i.Serum / Sternzell-aktivität	GOT + GPT über 40 U/l		übrige Fälle		GOT + GPT bestimmt in n
	n	%	n	%	
0	51	34.5	97	65.5	148
+	275	47.9	299	52.1	574
++	412	54.1	349	45.9	761
+++	264	62.7	157	37.3	421
Summe	1002		902		1904

b) Cholesterin:

Tab. 11: Cholesterin im Serum über 200 mg% im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

Cholesterin i.Serum / Sternzell-aktivität	über 200mg%		unter 200mg%		Cholesterin bestimmt in n
	n	%	n	%	
O	21	72.4	8	27.6	29
+	88	63.3	51	36.7	139
++	95	59.4	65	40.6	160
+++	45	41.3	64	58.7	109
Summe	249		188		437

Aus Tab. 11 ergibt sich, daß, je höher die Aktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferschen Sternzellen ist, umso seltener tritt Hypercholesterinämie auf, was als Hinweis gewertet werden kann, daß die Sternzellen im Fettstoffwechsel eine gewisse Rolle spielen.

c) Gamma-Globuline:

Tab. 12: Rel. Gamma-Globulinkonzentrationen im Serum im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferzellen.

γ-Globuline i.Serum / Sternzell-aktivität	unter 22 rel.%		22 - 26 rel.%		über 26 rel.%		γ-Globuline bestimmt in n
	n	%	n	%	n	%	
0	57	53.3	23	21.5	27	25.2	107
+	325	55.5	122	20.8	139	23.7	586
++	400	55.8	178	24.9	138	19.3	716
+++	164	41.7	99	25.2	130	33.1	393
Summe	946		422		434		1802

Es besteht somit keine Relation zwischen der Aktivität der Sternzellen und dem Gamma-Globulin-Serumspiegel, so daß hier zwei unabhängige Systeme der Leberzelle angenommen werden müssen.

d) Bromthaleintest:

Tab. 13: Bromthaleinkonzentration im Serum 30 Min. p.i. im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

Bronthalein-konz. i. Serum / Sternzell-aktivität	unter 5%		5 - 10 %		über 10%		Bromthalein-test durch-geführt in n
	n	%	n	%	n	%	
O	1	4.6	6	27.3	15	68.1	22
+	10	11.2	33	37.1	46	51.7	89
++	15	23.1	20	30.8	30	46.1	65
+++	8	17.4	11	23.9	27	58.7	46
Summe	34		70		118		222

Ein sichtbarer Zusammenhang zwischen der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen und dem Bromthaleintest ergibt sich nicht, was bestätigt, daß die Farbstoffsekretion in erster Linie durch die Leberzelle erfolgt.

e) Bilirubin:

Tab. 14: Bilirubin im Serum im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

Bilirubin i.Serum / Sternzell-aktivität	unter 1,2 mg%		1,2 - 3mg%		über 3 mg%		Bilirubin bestimmt in n
	n	%	n	%	n	%	
0	66	64.1	29	28.1	8	7.8	103
+	355	61.6	202	35.1	19	3.3	576
++	386	51.8	324	43.4	36	4.8	746
+++	215	53.5	155	38.5	32	8.0	402
Summe	1022		710		95		1827

Ein sichtbarer Zusammenhang zwischen der Bilirubinkonzentration im Serum und der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen ergibt sich nicht, was bestätigt, daß die Bilirubinelimination vor allem eine Funktion der Hepatozyten ist.

f) Eisenspiegel im Serum:

Tab. 15: Eisenspiegel im Serum im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

Eisenspiegel i.Serum / Sternzell-aktivität	unter 110 uval/l		110 - 150 uval/l		über 150 uval/l		Eisenspiegel bestimmt in n
	n	%	n	%	n	%	
0	9	31.0	15	51.8	5	17.2	29
+	43	21.7	71	35.9	84	42.4	198
++	66	19.0	110	31.5	173	49.5	349
+++	38	21.5	69	39.0	70	39.5	177
Summe	156		165		332		753

Ein erkennbarer Zusammenhang zwischen dem Eisenspiegel im Serum und der Aktivität der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen ergibt sich nicht.

B) Histochemische Vergleiche

a) Siderin:

Tab. 16: Nachweis von Siderin in den Kupfferzellen im Vergleich zur Aktivität der sauren Phosphatasen

Pos.Siderinnachweis in Sternzellen / Sternzell-aktivität	Anzahl	Prozent	Gesamt n
O	20	13.5	148
+	131	22.8	574
++	233	30.6	761
+++	173	32.5	421
Summe	521		1904

Entsprechend der höheren Aktivität der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen ist auch das Abbauprodukt Siderin dort häufiger nachweisbar.

b) Nachweis von groben Fettropfen in den Hepatozyten

Untersucht wurden hierbei die Kollektive folgender Krankheiten: chronisch aggressive Hepatitis, chronisch persistierende Hepatitis und Fettleber.

Tab. 17: Hepatozytenverfettung im Vergleich mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

Fettropfennachweis / Sternzellaktivität	positiv		negativ		untersucht
	n	%	n	%	n
0	67	65.0	36	35.0	103
+	278	66.0	143	34.0	421
++	229	57.4	170	42.6	399
+++	77	39.1	120	60.9	197
Summe	651		469		1120

Aus Tab. 17 ergibt sich, daß mit zunehmender Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen die Verfettung der Hepatozyten sinkt, was ebenfalls als Beteiligung der Sternzellen am Fettstoffwechsel zu werten sein dürfte.

Die vorliegende Auswertung zeigt, daß bei erhöhter Aktivität der sauren Sternzellphosphatasen auch die Aktivität der GOT und GPT im Serum erhöht ist, der Cholesterinspiegel im Serum sinkt jedoch ab. Eine Relation zwischen dem Gamma-Globulin-Spiegel im Serum und der Sternzellaktivität ist nicht eindeutig erkennbar, ergibt sich auch nicht mit dem Bromthalein-Test, der Höhe des Serumbilirubinspiegels oder des Serumeisenspiegels.

Daraus kann geschlossen werden, daß die zur klinischen Überwachung herangezogenen Serumparameter das Verhalten der Sternzellen bzw. des RES nur bedingt anzeigen.

Tab. 18: Leberkrankheiten und Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen (Angaben in Prozent).

Sternzell-aktivität / Leber-krankheiten	0	+	++	+++	Gesamt
Norm	33.3	50.0	16.7	-	24
Virus-hepatitis	3.8	13.8	54.1	28.3	529
Leber-cirrhose	9.8	31.4	29.8	29.0	255
Fettleber	13.3	43.5	33.1	10.1	543
diabet. Fettleber	17.5	57.3	19.6	5.6	143
chron.aggr. Hepatitis	6.0	17.0	41.0	36.0	283
chron.persist. Hepatitis	4.8	46.6	35.0	13.6	294

Andererseits belegt die vorstehende Tabelle 18, daß klinisch aktive und progressive Leberkrankheiten mit einer deutlich höheren Frequenz der Saure-Phosphatase-Aktivität in den Sternzellen einhergeht, was nicht immer mit den Serumparametern (GOT, GPT, Cholesterin usw.) belegbar sein muß.

Die Normfälle lassen erkennen, daß 50% der Probanden mit histologisch gesunder Leber und serologisch normalen Leberwerten in den Sternzellen eine mäßige Aktivität der sauren Phosphatasen gewissermaßen als "Grundausstattung" erkennen lassen, nur bei 33.5% gab es keine nachweisbare Aktivität, eine stark gesteigerte Aktivität fehlte.

Die 543 Fälle mit einer Fettleber entbehrten im wesentlichen einer deutlichen Aktivitätssteigerung der sauren Phosphatasen (+++ bei 10.1%), deren Verhalten in den Sternzellen etwa der Norm entsprach bzw. leicht gesteigert war (++ bei 33.1%). Bei der rein diabetogenen Fettleber ergab sich ein Verteilungsmuster, daß sich nur noch unwesentlich vom Normalkollektiv (Werte in Klammern) unterschied:

0	: 17.5%	(33.3%)
+	: 57.3%	(50.0%)
++	: 19.6%	(16.7%)
+++	: 5.6%	(0.0%)

Besonderes Interesse galt der akuten Virushepatitis,

da es sich hierbei um eine akute Noxe handelt und andere Faktoren somit nicht so ins Gewicht fallen dürften.

Wie folgende Tabelle zeigt

Tab. 19: Laborparameter im Vergleich mit der Sternzellaktivität bei Virushepatitis. (Angaben in Prozent)

Sternzellaktivität	O,+	++	+++
GOT normal	45.2	48.7	40.0
GOT erhöht	54.8	51.3	60.0
GPT normal	44.1	44.4	30.0
GPT erhöht	55.9	55.6	70.0
γ-Globulin unter 22%	59.3	57.3	47.1
γ-Globulin über 22%	40.7	42.7	52.9

korrelieren auch hier die üblichen Serumparameter nur bedingt mit der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Sternzellen.

Wenn man eine Lebererkrankung als gestörten Synergismus zwischen Hepatozyten und RES auffaßt, so ist das Ergebnis der deutlichen Aktivitätssteigerung der Sternzellen (++ und +++) in den einzelnen Gruppen aufschlußreich, wobei die akute Virushepatitis das RES am stärksten aktiviert (82.4%), das Gefälle zur Norm verläuft dann über

die chronisch aggressive Hepatitis (77.0%) über die Lebercirrhose (58.8%), die chronisch persistierende Hepatitits (48.6%) zur Fettleber (43.2%).

Wie oben gezeigt wurde, bestehen nur gewisse Zusammenhänge zwischen der Aktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferschen Sternzellen und anderen nachweisbaren Parametern. Allerdings lassen sich in einem so polymorphen Kollektiv wie Patienten, was Zweit-, Dritterkrankungen, Vorerkrankungen, Altersunterschiede, Lebens- und Eßgewohnheiten, genetische Abstammung betrifft, nur begrenzte Aussagen machen.
Daneben ist das biologische Geschehen in der Leber so komplex, daß die wenigen, die unter den bekannten biochemischen Parametern hierbei herausgegriffen wurden, sicher nicht ein so kompliziertes biochemisches Wechselgeschehen wie das der Leber auch nur annähernd erklären kann.
Um dies zu verdeutlichen, möchte ich eine Tabelle über die enzymatische Aktivitätsänderung bei Lebererkrankungen nach POPPER einfügen.

Tab. 20: Nach POPPER Enzymaktivitätsschwankungen bei menschlichen Lebererkrankungen.

Enzem	akute Hepatitits	chronische Hepatitis	Leber-cirrhose
Cytochromoxydase	vermindert	vermindert	-
Laktatdehydro-genase	vermindert	-	vermindert
Glukose-6-Phosphat-dehydrogenase	erhöht	erhöht	erhöht
α-Glycerophosphat-dehydrogenase	vermindert	vermindert	vermindert
Aldolase	vermindert	vermindert	-
Glukose-6-Phos-phatase	vermindert	-	vermindert
Alkohol-dehydrogenase	vermindert	-	-
Glutamat-dehydrogenase	vermindert	vermindert	vermindert
Glutamat-oxalace-tat-transaminase	vermindert	vermindert	-
Alkalische Phosphatase	-	erhöht	-
Esterase	vermindert	-	-
Catalase	vermindert	erhöht	erhöht

VII DISKUSSION

Wie oben gezeigt, besteht also bei den verschiedenen Leberkrankheiten des Menschen ein unterschiedliches, nicht immer charakteristisches Verhaltensmuster der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen, wobei nur in begrenztem Ausmaß Relationen zu den üblichen, klinisch erfaßten Serumparametern erkennbar werden. Daß jedoch nicht eine konstante und eindeutige Charakteristik des Verhaltens zu beobachten ist, dürfte wohl in verschiedenen Faktoren zu suchen sein.

1. Die entnommene Stanze ist nur bedingt repräsentativ für die ganze Leber, besonders bei der Lebercirrhose.

2. Chronische Erkrankungen, wie z.B. die Lebercirrhose verlaufen meist in Schüben, die Aktivität der sauren Phosphatasen dürfte somit ganz entscheidend vom Zeitpunkt der Gewebsentnahme abhängen, erfolgte sie nun vor, während oder nach einem Aktivitätsschub.

3. Lebererkrankungen gehen ineinander über, scharfe Grenzen lassen sich oft nicht ziehen, so führt eine chronisch aggressive Hepatitis im Laufe der Jahre meist zu einer Lebercirrhose.

4. Lebererkrankungen sind in ihrem Fortschreiten oder Heilen neben der genetischen Veranlagung ganz entscheidend von den Lebensgewohnheiten, wie z.B. Alkoholabusus, abhängig.

5. Patienten stellen ein äußerst inhomogenes Kollektiv dar, was z.B. Alter, Lebensweise, Zweit- und Dritterkrankungen betrifft.

Bereits aus dieser kurzen Aufstellung dürfte hervorgehen, daß eine charakteristische Aktivitätsänderung im Sinne einer eindeutigen Zuordnung eher unwahrscheinlich ist. Demgegenüber sind in oben genannten Tierversuchen ganz andere Voraussetzungen gegeben:

1. Tiere gleichen Alters
2. Gleiche Ernährung
3. Untersuchung der ganzen Leber und nicht einer kleinen Stanze
4. Bekanntes Zeitintervall zwischen Noxe und histochemischer Untersuchung
5. Untersuchung von Veränderungen meist durch akute Erkrankungen und nicht durch chronische
6. Ausschluß von Zweit- oder Dritterkrankungen.

VIII ZUSAMMENFASSUNG

Mit einer modifizierten Methode nach GOMORI wurden neben 24 Referenzstanzen von Patienten ohne klinische und laborchemische Zeichen einer Lebererkrankung histotopochemisch die Aktivität der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen von 1904 Leberstanzen bei verschiedenen Lebererkrankungen aus dem Patientengut der Städtischen Krankenhäuser München-Oberföhring und München-Schwabing untersucht. Es entfielen dabei 529 Stanzen auf eine akute Virushepatitits, 255 auf eine Lebercirrhose, 543 auf eine Fettleber, 283 auf eine chronisch aggressive Hepatitis und 294 auf eine chronisch persistierende Hepatitis.

Die Aktivität der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen wurde subjektiv beim Betrachten des histochemisch präparierten Gewebsschnittes anhand der Dichte des sichtbaren Bleisulfidniederschlages in vier Aktivitätsgruppen eingeteilt.

Dabei wurde ein unterschiedliches Verteilungsmister der Aktivitätshäufigkeiten bei den einzelnen Kollektiven beobachtet. Beim Vergleich mit klinisch-chemischen Parametern im Serum ergaben sich nur angedeutet synergistische Zusammenhänge zwischen den laborchemischen Zeichen einer Leberentzündung und der histochemischen Aktivität der sauren Phosphatasen, sowie ein umgekehrt proportio-

naler Zusammenhang zwischen histochemischer Enzymaktivität der sauren Phosphatasen in den Kupfferzellen und der Häufigkeit des Auftretens von Hypercholesterinämie. Auch gelang der Nachweis von groben Fettropfen in der Gruppe mit hoher histochemischer Enzymaktivität wesentlich seltener als in den drei anderen Gruppen.
Der Nachweis von Siderin in den Kupfferzellen gelang umso häufiger, je höher die Aktivität der sauren Phosphatasen in diesen Zellen war.
Abschließend läßt sich sagen, daß die von Kupfferschen Sternzellen sicher eine vielleicht nicht zu unterschätzende Rolle im Immunsystem und im Intermediärstoffwechsel spielen, inwieweit allerdings die Aktivität der sauren Phosphatasen ausschließlich ein Indikator für die gesamte biologische Aktivität der von Kupfferschen Sternzellen darstellt, muß offen bleiben, wenngleich sich für das Verhalten der Sternzellaktivität bei Leberkrankheiten des Menschen eine gewisse Gesetzmäßigkeit ableiten läßt:

1. Bereits in der Leber des gesunden Menschen besteht eine Aktivität der sauren Phosphatasen in den von Kupfferschen Sternzellen (Bereitstellungsaktivität).

2. Die größte Aktivitätssteigerung der sauren Phosphatasen der Sternzellen findet sich bei der akuten und floriden Virushepatitits (82.4%).

3. Das Aktivitätsgefälle der Sternzellen verläuft über die chronisch aggressive Hepatitits (77.0%), die Lebercirrhose (58.8%) zur chronisch persistierenden Hepatitits (48.6%), während die Fettleber mit 43.2% bzw. 25.2% bei der diabetischen Fettleber am Ende der gesteigerten Reaktion des RES und der Sternzellen steht.

4. Es besteht dann ein Synergismus mit Serumparametern, wenn Hepatozytenschädigung und Sternzellaktivierung gleichzeitig nebeneinander vorliegen.

5. Für die klinische Nutzanwendung läßt sich ableiten, daß eine gesteigerte Aktivität der Sternzellen eine noch akute Erkrankung mit intakter Reaktion des RES annehmen läßt.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

ALLISON, A.C., BURSTONE,M.S.:
Histochemical demonstration of changes in liver cell enzymes following infection with mouse hepatitis virus.
Hist. 3, 462-466 (1963)

ALLISON, A.C., SANDELIN, K.:
Activation of lysosomal enzymes in virus infected cells and its possible relationship to cytopatic effects.
J.exp.Med. 117, 879-887 (1963)

ASCH, :
Über die Ablagerung von Fett und Pigment in den Sternzellen der Leber.
Dissertation - Universität Bonn, 1884

ATERMAN, K.:
Arch.Path. 53, 197-208 (1952)

ATERMAN, K.:
The Kupffercell - A short historical review.
Proceedings of the International Kupffercell-Symposium, Sept. 1977

BARKA, T.:
Studies of acid phosphatase.
Electrophoretic separation of acid phosphatase of rat liver on polyarylamide gel.
J. Histochemical Cytochem. 9, 542-547 (1961)

BARNETT, R.J., SELIGMAN, A.M.:
Histochemical demonstration of esterases by production of indigo.
Science 114, 579-582 (1951)

BENES, K., LODJA, Z., HORVAVKA, B.:
Acid phosphatase, comparison of Gomori and azocoupling reaction.
Hist. 2, 315 (1961)

BURSTONE, M.S.:
Histochemical demonstration of phosphatases on frozen section with naphtal AS-phosphatase.
J.Histochemical Cytochem. 6, 322-339 (1958c)

CARR, I.:
The Kupffercell - An overview.
Proceeding of the International Kupffercell-Symposium, Sept. 1977

DeDUVE, C.:
Subcellular particles.
Edit.T. Hayashi.
N.Y. Ronald Press 128-159 (1961)

DeDUVE, C., BERTHET, J.:
The use of differential centrifugation in the study of tissue enzymes.
Int.Rev.Cytol.3, 225-257 (1954)

EDER, M., GEDIGK, P.:
Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie.
Springer-Verlag 1975 (s.18-29)

GANDER, E.S., MOPPERT, J.M.:
Der Einfluß von Dimethylsulfoxyd auf die Permeabilität der Lysosomenmembran bei quantitativer und qualitativer Darstellung der sauren Phosphatase.
Hist. 20, 211-214 (1969)

GIANETTO, R., DeDUVE, C.:
Tissue fraction studies.
Comparative study of the binding of acid phosphatase, ß-glucuronidase and cathepsin by rat liver particles.
Biochem.J. 59, 433-438 (1955)

GOMORI, G.:
Distribution of acid phosphatase in the tissue under normal and pathologic conditions.
Arch.Path. 41, 121-129 (1941)

GÖSSNER, W.:
Histochemischer Nachweis hydrolytischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode.
Untersuchungen zur Methodik und vergleichenden Histotopik der Esterasen und Phosphatasen bei Wirbeltieren.
Histochemie 1, 48-96 (1958)

GRAUMANN, W., NEUMANN, K.:
Handbuch der Histochemie, Bd. VII: 3-23, 76-97, 119-150
G.Fischer-Verlag, 1960

GROGG, E., PEARSE, A.G.E.:
The enzyme and lipid histochemistry of experimental tuberculosis.
Brit.exp.Path.33, 567-575 (1952)

HOLT, S.J.:
A new approach to the cytochemical localisation of enzymes.
Proc.roy.Soc. 142 B, 160-169 (1954)

HOLT, S.J., WITHERS, R.F.J.:
Cytochemical localisation of esterases using indoxyl derivatives.
Nature (London) 170, 1012-1014 (1952)

HOLTER, H., LOWY, B.A.:
A study of properties and localisation of acid phosphatase in the amoeba chaos chaos.
L.C.R. Lab.Carlsberg 31, 105-127 (1958 - 1960)

IDE, H., FISHMAN, W.H.:
Dual localisation of β-glucuronidase and acid phsophatase in lysosomes and microsomes.
Hist. 20, 300-321 (1969)

IKAWA, T., NISIZAWA, K., MIWA, T.:
Specifities of several phosphatases from plant sources.
Nature (London) 203, 939-940 (1964)

JONES, W.A., COHEN, R.B.:
The effect of a murine hepatitis virus on the liver cell.
Amer.J.Path. 41, 329-347 (1962)

KARLSON, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie, S. 127
G.Thieme-Verlag, 1967

KAUTZSCH, E.:
Enzymhistotopographie der Leber.
Med.Klinik 59, 1501-1505 (1964)

KAUTZSCH, E.:
Zum histopathologischen Verhalten der sauren Phosphatase in der Leber.
Ikterus, Intern. Symposium, 1967

KAUTZSCH, E.:
Enzymes in Health and Disease.
Inaug.Scient.Meet. Int.Clin.Ezymol., London 59-67 (1977)

KOZIK, M., WARCHOL, J., ACRIMOVICZ, B.:
Preparation of histochemical section for quantitative determination of acid phosphatase by means of laser microanalysis.
Hist. 26, 74-79 (1971)

KOZIK, M., WARCHOL, J., ACRIMOVICZ, B.:
Further investigations concerning the applicability of laser analysis in quantitative histochemistry.
Hist. 26, 212-217 (1971)

von KUPFFER, C.:
Über die sog. Sternzellen der Säugetierleber.
Arch.Mirkosk.Anatomie 54, 254-288 (1899)

LANDSDOWN, A.B.G., ELLABY, S.J.:
Histochemical demonstration of changes in liver cell enzymes in pregnant mice infected with coxsackie B3 virus.
Hist. 40, 175-180 (1974)

LODJA, Z., VERCEREK, B., PELICHOVA, H.:
Detection of acid phosphatase with varoius methods.
Hist. 3, 448 (1964)

LODJA, Z., VERCEREK, B., PERICHOVA, H.:
Acid phosphatase, methodological remarks concerning azo-coupling reactions.
Hist. 3, 428 (1964)

MEIJER, A.E.F.H., BENSON, D., SCHOLTE, H.R.:
The influence of freezing and freeze-drying of tissue specimens on enzyme activity.
Hist. 297-303 (1977)

MENTEN, M.L., JUNGE, J., GREEN, M.H.:
Distribution of alkine phosphatase in kidney following the use of histochemical azo dye test.
Proc.Soc.exp.Biol. N.Y., 57, 82-86 (1944)

MUNTHE-KAAS, A.C., BERG, T., SELJELID, R.:
Phagocytosis in rat Kupffer cells in vitro.
Exp. Cell Res. 99, 146-154 (1976)

NEIL, M.W., HORNER, M.W.:
The acid para-nitro-phenyl-phosphatase activity of adult guinea pig liver subcellular fractions.
Biochem. J. 84, 32 (1962)

NEUMANN, K.:
Über histochemisch-quantitative Phsophatase-bestimmung.
Anat.Anz. (erg.H.) 97, 165-172 (1950)

NEUMANN, K.:
Fehlerquellen bei der histochemischen Reaktion auf saure Phosphatasen.
Zschr.wiss.Mikr. 60, 449-462 (1952)

NOVIKOFF et al.:
J.Histochem. Cytochem. 1, 27-46 (1953)

NOVIKOFF, A., ESSNER, E.:
The liver cell. Some new approaches to its study.
Amer.J.Med. 29, 102-131 (1960)

PEARSE, A.G.E.:
Extension of the limits of cellular pathology, the roll of enzyme histochemistry.
J.Clin.Path. 11, 520 (1958)

POPPER, H., SCHAFFNER, F.:
Response of liver to injury in:
Progress in liver disease 1961

RIECKEN, E.O., GÖSSNER, W., PEARSE, A.G.E.:
Akute Vitamin-A Intoxikation der Maus.
Frühveränderungen an der histochemisch nachweisbaren unspezifischen sauren Phosphatase in Dünndarm und Leber.
Hist. 8, 22-33 (1967)

ROCHE, J.:
Phosphatases.
"The Enzymes", Bd. I, 437-510 (1950)

ROSENBAUM, R.M., ROLON, C.I.:
Species variability and the substrate specifity of intracellular acid phosphatases.
A comparison of the lead-salt and azo dye methods.
Hist. 3, 1-16 (1962)

ROTHE, P.:
Über die Sternzellen der Leber.
Inaug. Dissertation - München 1882

RUTENBURG, A.M., SELIGMAN, A.M.:
The histochemical demonstration of acid phosphatase by a post incubation coupling technique.
J.Histochem.Cytochem. 3, 455-470 (1955)

RUYTER, J.H.C.:
Studies on an improved lead phosphate technique for the demonstration of nonspecific acid phosphatase in non-deparafinized organ and tissue sections.
Hist. 3, 521-537 (1964)

SELIGMAN, A.M., MANHEIMER, L.H.:
A new method for the histochemical demonstration of acid phosphatase.
J.nat.Cancer Inst. 9, 427-434 (1949)

TSUBOI, K.K., HUDSON, P.B.:
Acid Phosphatase, Specific kinetic properties of highly purified prostatic phosphomonoesterase.
Arch.Biochem. 55, 191-205 (1955)

WALED, N., KERR, S.E.:
The distribution of phosphomonoesterases and pyrophosphatase in the particulate fractions of dog cerebrum.
J.Histochem.Cytoche. 3, 75-84 (1955)

WISSE, E., v.d. MEULEN, J., EMEIS, J., DAMES, W.Th.:
Encyme cytochem. study of rat liver endothelial and Kupffer cells.
Proc. 8th Congr.Electr. Microsc.
Canberra 2, 408 (1974)

WISSE, E.:
Kupffer cell reactions in rat under various conditions as observed in the electron microscope.
J. Ultrastruct. 46, 449 (1974)

WISSE, E.:
Ultrastructure and function of Kupffercells and other sinusoidal cells in the liver.
Proceedings of the International Kupffer cell-Symposium.
Sept. 1977

WISSE, E., KNOOK, D.L.:
Kupffer cells and other liver sinusoidal cells.
Elsevier/North-Holland Biomedical Press
3-21, 93, 109, 121, 153, 163, 183, 223, 233, 273, 289, 355, 427, 437, 459, 497, 505 (1977)

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei dem ehemaligen Chefarzt des Städtischen Krankenhauses München-Oberföhring, Herrn Dr. med. E. Kautzsch für die freundliche Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Überlassung sämtlicher Unterlagen bedanken. Durch diese hilfreiche Unterstützung ist es mir möglich, diese Dissertation in der jetzigen Form vorzulegen.

LEBENSLAUF

Am 3.9.1950 wurde ich als Sohn des Dipl.-Ing. Fritz Triebig und seiner Ehefrau Christel, geb. Pomp, in Steinhöring/Obb. geboren.

1956 - 1960 Besuch der Volksschule in München

1960 - 1969 Besuch des Albert-Einstein-Gymnasiums in München

1969 - 1970 Besuch des Nymphenburger-Gymnasiums in München

1970 Studium der Mathematik und Physik an der LMU in München

1971 - 1973 Studium der Vorklinik an der LMU in München

1973 - 1977 Klinisches Studium am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität in München

1977 Staatsexamen

1978 - 1979 Medizinalassistent am Klinikum rechts der Isar und dem Städt. Krankenhaus München-Oberföhring

seit Mai 1979 Assistenzarzt am Städtischen Krankenhaus München-Neuperlach.